

症例報告からみた日本における輸入蠕虫感染症の動向に関する予備的分析

分担研究者 有菌直樹 京都府立医科大学医学研究科寄生病態学教授

研究要旨：現在当研究班では蠕虫症の症例を網羅した独自のデータベースを作成すべく作業をすすめている。どのようなデータベースが輸入蠕虫症の監視や解析にもっとも有効に活用しうるかという点を検討するために、これまでに入力を終えた1988年から2002年の医学中央雑誌収載の蠕虫症例について、特に報告件数の年次変動についての予備的解析を試みた。国内で感染しうるが輸入食品も感染源となる可能性が指摘されている回虫症（208件）、肺吸虫症（177件）、顎口虫症（77件）の解析では、近年とくに報告件数の増加は認められなかった。一方、寄生虫宿主動物の日本への侵入と定着に関係する広東住虫線虫症（26件）は近年増加傾向が示された。日本人の国外感染や来日外国人の輸入蠕虫症では、マンソン住血吸虫（30件）、ビルハルツ住血吸虫（17件）、単包条虫症（10件）、有鉤条虫/囊虫症（63件）の報告件数が近年増加していることが明らかになった。これ以外に旋尾線虫症（47件）およびブタ回虫症（31件）の報告件数も近年急激に増加していることが明らかになった。しかし今回の予備分析は対象が医学中央雑誌収載例に限られおり、さらに感染源の推定などの詳細な分析に用いるためには入力データの内容が不十分であることが明らかになった。分析の精度と信頼度を向上させるためには、より広く症例を収集するとともに、詳細な分析を可能にする十分な情報を入力することが必要と考えられた。

A. 研究目的

世界で数十億人のひとびとが蠕虫に感染している。これらの蠕虫症の中には、住血吸虫症、包虫症、有鉤条虫/囊虫症、各種幼虫移行症など高病原性寄生虫症が含まれており、蠕虫感染者の大半が居住する開発途上国においては蠕虫症は看過できない医学、公衆衛生学的問題である。一方、わが国を含めた先進諸国においては、回虫や鉤虫などの古典的寄生虫症が著しく減少したことにともない蠕虫症に対する関心が薄れたため、蠕虫感染

症の日本における発生状況を把握することすら困難な状況となっている。しかし、現代日本において古典的腸管寄生虫症は著しく減少したものの、それに変わって各種幼虫移行症や輸入寄生虫症の増加が指摘されており、これらを監視し適切な対策をたてることが今後の重要な課題である。

このような背景のもとに、蠕虫症の日本における現状を解析し今後の動向を推測するための1方策として本研究班で蠕虫症データベースの作成を開始した。本研究では、ど

のようなデータベースが輸入蠕虫症の監視や解析にもっとも有効に活用しうるかという点を検討するために、これまでに入力を終えた1988年から2002年の医学中央雑誌収載症例を用い、その症例分析と特定施設での症例分析を比較検討し、それぞれの長所・短所を明らかにすることを試みた。さらに、多種類の蠕虫症について、医学中央雑誌収載例の報告件数の年次変動について予備的解析を試みた。

B. 研究方法

1988年から2002年の医学中央雑誌に収載されていた蠕虫症例を会議録、原著の中から検索し、その報告件数をカウントした。同一症例が複数の学会で報告されている例も見受けられ、明らかな場合は重複を避けたが、完全に重複がないとはいえない。

C. 研究結果と考察

1. 全国症例と特定施設における症例の比較 - 特に条虫症を対象としての検討

全国症例と特定施設における症例分析のそれぞれの長所・短所を明らかにするために、全国からの症例が集積されている医学中央雑誌収載例と京都および近隣府県という限定された地域からの症例が集積されている京都府立医科大学医動物学教室症例を比較検討した。検討対象疾患としては食品媒介寄生虫症としての広節/日本海裂頭条虫症および無鉤条虫症を用いた。

対象例数は広節/日本海裂頭条虫症は医学中央雑誌76例、京都府立医大97例、無鉤条虫症は医学中央雑誌18例、京都府立医大19例である。分析対象とした医学中央雑誌収載症例数が、後述の表3に記載した数値と異なるのは、検索対象年度が若干異なること、性別、年齢情報のないものは条虫症の分析対象から削除したことなどによる。

最初にこれらの症例の年齢および性別の分布を解析した。図1および2に示したごとく、医学中央雑誌収載例と京都府立医大例で

ほとんど差がないことが明らかになった。

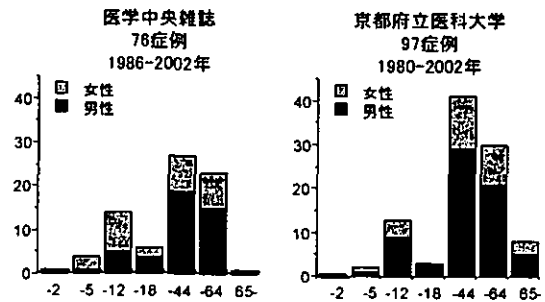


図1. 広節/日本海裂頭条虫症感染者の年齢別、性別分布

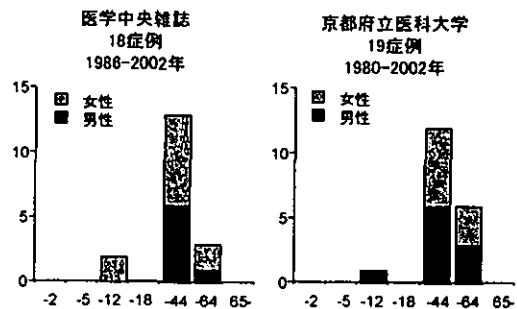


図2. 無鉤条虫症感染者の年齢別、性別分布

次に、各条虫症症例数の年次推移を検討した。図3、4に示したごとく、広節/日本海裂頭条虫症と無鉤条虫症の症例数の年次推移は全国症例と京都府立医大症例の間で必ずしも一致しなかった。

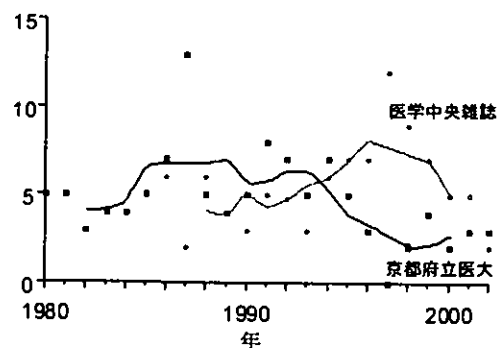


図3. 広節/日本海裂頭条虫症症例の年次推移

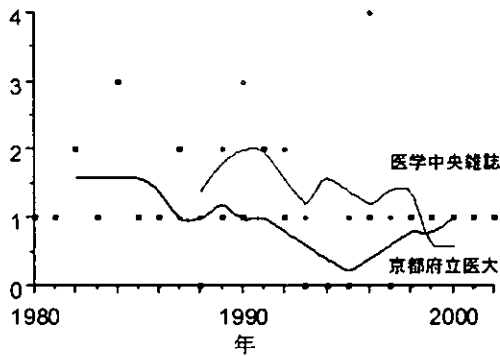


図4. 無鉤条虫症例の年次推移

両条虫症の感染源を分析することは、医学中央雑誌例では情報量が不足しており不可能であったため、京都府立医科大学例のみについて行った。

日本における広節/日本海裂頭条虫症は回遊性を持ったサケ・マス類の生食によることが古くより知られており、中でもサクラマスが感染源として重要であることが指摘されてきた。京都の市場におけるサクラマスは神通川産のものが多く流通しているとのことで、京都府立医大における広節/日本海裂頭条虫症例数の年次変動と神通川サクラマス漁獲量の年次変動を比較した。その結果、図5に示したようにサクラマス漁獲量と京都府立医大広節/日本海裂頭条虫症例数の間に高い相関が見られることが明らかになった。この結果は、少なくとも京都地域における広節/日本海裂頭条虫症の発生は、中間宿主における広節/日本海裂頭条虫幼虫の寄生率に依存するのではなく、単純にサクラマスの流通量に依存していることを示唆しており興味深い。サクラマスにおける広節/日本海裂頭条虫幼虫の寄生率についての最近の調査はないが、少なくとも1970年、1980年代の調査では全国の多くの地域において17-55%の寄生率が見られている。さらにサクラマスが広節/日本海裂頭条虫幼虫に感染するのは日本国内ではなく、日本海を回遊している間にまだ不明の地で感染すると推測されていることを考え合わせると、その寄生率は現在も大きな変動がないのかもしれない。

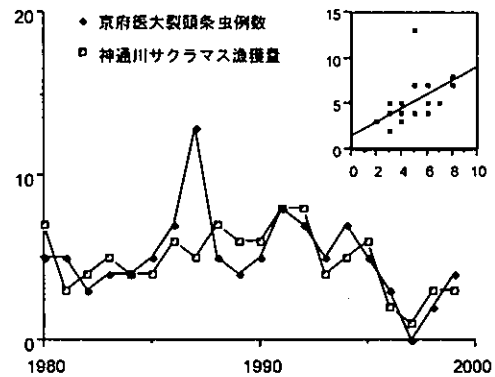


図5. 京都府立医大広節/日本海裂頭条虫症例の年次変動と神通川サクラマス漁獲量(トン)

Inset: 漁獲量(横軸)と症例数(縦軸)の相関. $r=0.553$ $P<0.01$

一方、全国における広節/日本海裂頭条虫症例数と京都府立医大における症例数の変動はかならずしも一致せず、また全国症例数と神通川サクラマス漁獲量の推移との間に相関が見られなかった。このことは、食品流通が全国化し地域差が減少しつつあるとはいえ、食品媒介寄生虫症にはなお地域的特性が存在することを示唆している。全国レベルで見た場合、輸入サケ・マス類が広節/日本海裂頭条虫の感染源になりうるかどうかは、さらに調査を要する。

無鉤条虫は牛肉の生食によって感染する。日本でも明治期より日本産の牛に無鉤囊虫が見出され、国内各地の日本人に無鉤条虫症が見られていた。少なくとも昭和20年代までは日本で飼育されている牛からヒトへの感染が報告されている。現在、屠場での牛の検査体制の確立により日本で遭遇する無鉤条虫症はむしろ輸入感染症と位置づけるむきもあるが実態は定かでない。京都府立医大無鉤条虫症例で患者から十分に聞き取り調査ができた12例について、その感染地域をまとめた(表1)。12例中3例が外国人であった。また半数は国外で感染したと推定された。しかし他の半数はその食歴から、ほぼ確実に日本国内での感染と推定された。日本国

内での感染が、日本で飼育されていた牛によるのか輸入牛によるのかは明らかでないが、-10度C、10日以上冷凍したものは一応安全とされていることから冷凍牛によるものとは考え難い。このように、現在の無鉤条虫症は輸入感染症としての色彩が強いものの、なお国内感染も十分にあり得ると考えられる。

表 1. 京都府立医大無鉤条虫症例における感染地

	日本人	外国人	計
国内	4*	1	5
国外	4 タイ、トルコ、エチオピア、ブラジル	1 エチオピア	5
判定不能	1	1	2
計	9	3	12

*日本国内で感染した4例中の1例は、中国からやせ葉として持ち込まれ、ひそかに販売されていた無鉤囊虫を購入し服用した例。

以上述べてきたごとく、大型条虫症の男女比や年齢分布については、全国症例と京都府立医大症例の間で高い一致が見られたが、年次変動はかならずしも一致しなかった。このことは、食品流通が全国化し地域差が減少しつつあるとはいえ、食品媒介寄生虫症にはなお地域的特性が存在することを示唆している。したがって、特定施設の調査のみで全国的な変動を推測するのは、寄生虫種によっては無理があると考えられた。一方、全国症例は当然のことながら全国レベルでの動向をよく反映するはずであるが、症例に遭遇した医師に興味なければ報告されないという欠点や、その疾患に関連する情報が十分に得られないといった問題が残る。このことから、医学中央雑誌など既存データベースだけを用いた分析には限界があり、より突っ込んだ分析の可能なデータベースを作成する必要がある。

2. 全国症例報告からみた日本における各種輸入蠕虫症の動向に関する予備的分析

1988年から2002年の15年間に医学中央雑誌に掲載されていた全国からの蠕虫症例について、その報告件数を5ヵ年ごとに集計し、蠕虫症発生の動向に関する解析を試みた。解析対象疾患は表2、3、4に示したとおりである。

吸虫症(表2)では、日本住血吸虫症の報告件数が以前にくらべて減少しているが、逆にビルハルツおよびマンソン住血吸虫症の輸入例の報告件数が増加していることが明らかである。肺吸虫症は基本的に比較的高い報告件数が持続している。

表 2. 日本における吸虫症例の学会および原著報告件数の推移

	1988-1992	1993-1997	1998-2002	計
日本住血吸虫症	124	61	60	245
ビルハルツ住血吸虫症	4	6	20	30
マンソン住血吸虫症	2	7	8	17
肺吸虫症	67	56	54	177
肝蛭症	44	17	17	78
肝吸虫症	27	21	15	63

条虫症(表3)では、多包虫症の報告がなお衰えをみせていない。単包条虫症例は基本

表 3. 日本における条虫症例の学会および原著報告件数の推移

	1988-1992	1993-1997	1998-2002	計
多包虫症	44	37	54	135
単包虫症	2	2	6	10
裂頭条虫症	35	44	44	123
大複殖門条虫症	14	16	3	33
マンソン孤虫症	37	17	36	90
有鉤条虫/囊虫症	18	21	24	63
無鉤条虫症	8	6	3	17

的に輸入症例であり、近年増加が見られている。同じく基本的に輸入症例と考えられる有鉤条虫/囊虫症もわずかに増加傾向にある。一方、日本に古来から存在する裂頭条虫の報告件数は、過去15年間で基本的に減少してい

ない。

線虫疾患（表 4）では、アニサキス症の報告件数が 1990 年前後と比較して減少している。移行性幼線虫症では、従来から報告の多かったイヌ糸状虫症、トキソカラ症、顎口虫症は現在も継続して報告が見られる。一方、従来ほとんど報告のなかった鉤虫性皮膚は行症、旋尾線虫症およびブタ回虫症が過去 5 年間に急激に増加している。また、広東住虫線虫症の報告件数も増えている。

表 3. 日本における線虫症例の学会および原著報告件数の推移

	1988-1992	1993-1997	1998-2002	計
アニサキス症	230	84	137	451
回虫症	80	75	53	208
糞線虫症	69	65	58	192
イヌ糸状虫症	57	42	55	154
トキソカラ症	44	16	49	109
顎口虫症	28	22	27	77
鉤虫症	21	9	7	37
鉤虫性皮膚は行症	0	2	12	14
旋尾線虫症	3	19	25	47
ブタ回虫症	0	5	26	31
広東住虫線虫症	6	5	15	26
旋毛虫症	0	0	5	5

上述の結果を輸入感染症としての視点から以下にまとめた。

1. 輸入食品が関与する可能性のある蠕虫症

顎口虫症の一部は輸入ドジョウが感染源となっている。回虫症も輸入野菜が、肺吸虫症も輸入カニが感染源となる可能性があると考えられている。しかし、現在のところこれらの蠕虫症の症例報告件数に著名な増加は見られていない。

2. 中間宿主や終宿主動物の日本への侵入と定着が大きな要因となっている蠕虫症

現在、日本においては多包虫症や広東住虫線虫症がこの範疇に入ると考えられる。多包虫症は北海道において分布を拡大していることが知られている。今回の分析でも症例報告件数はわずかながら増加しつつあるよう

に思われる。広東住虫線虫も症例数は少ないが増加傾向にある。

3. 日本人の国外蠕虫感染および来日外国人の蠕虫症

ビルハルツ住血吸虫症、マンソン住血吸虫症が増加している。有鉤条虫/囊虫症は輸入食品によって発生する可能性もあるものの、多くは来日外国人の症例であり、微増傾向にある。単包虫症報告件数も、増加傾向が見られる。

今回の全国症例の予備分析は、基礎とした症例が医学中央雑誌収載例に限られていること、不確実な症例も含まれているであろうこと、症例の重複を完全にはチェックできていないなどの問題点を含んでいる。したがって、今回の予備分析から蠕虫症の動向に関してある程度の傾向が明らかにされたものの、その結果の信頼度が十分満足すべきレベルにあるとはけっしていけない。

信頼度を向上させ、感染源の推定等より突っ込んだ解析を可能にするためには、広く症例を収集し、疫学上必要な情報を兼ね備えたデータベースを構築する必要があると考えられる。

E. 結論

1988 年から 2002 年の医学中央雑誌収載の蠕虫症例報告について、特に年次変動についての予備的解析を試みた。その結果、顎口虫、回虫、肺吸虫など輸入食品が関与しうる可能性のある蠕虫症については、めだった報告件数の増加は見られなかった。広東住虫線虫症の報告件数の増加が見られ、その中間宿主や終宿主動物の日本への侵入の程度を明らかにする必要性が示唆された。ビルハルツ住血吸虫症、マンソン住血吸虫症、有鉤条虫/囊虫症、単包虫症の国外感染や来日外国人症例の報告件数が増加傾向にあることが明らかになった。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

有菌直樹：国内寄生虫の動向. 治療学 37 :
567-570, 2003

塩田恒三, 山田 稔, 内川隆一, 手越達也,
吉田幸雄, 有菌直樹：広節/日本海裂頭条虫の
疫学的動向. 日本臨床寄生虫学会誌 14 : 2003
(in press)

2. 学会発表

塩田恒三, 山田 稔, 内川隆一, 手越達也,
吉田幸雄, 有菌直樹：広節/日本海裂頭条虫の
疫学的動向. 第 14 回日本臨床寄生虫学会
長崎 2003. 6.21

H. 知的財産権の出願・登録状況 なし

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

輸入蠕虫症の疫学調査と蠕虫病疫学情報のデータベースについて
分担研究者 川中正憲 国立感染症研究所寄生動物部

協力研究者 余 森海 中国予防医学科学院寄生虫病研究所
協力研究者 安里龍二 沖縄県衛生環境研究所微生物部

研究要旨：わが国と交流が頻繁な中国において近年、寄生蠕虫症の疫学的状況が大きく変化しつつあると考えられるがその実態は必ずしも明らかではない。そこで、中国南部の元住血吸虫有病地の広西壮族自治区において疫学調査を実施した。アフリカ・マダガスカル島原産のアフリカマイマイの伝播と共に世界的に分布を拡大したといわれる広東住血線虫症の本邦での最近の疫学的特徴を抽出すべく調査をすすめた。本症の患者発生の大部分は沖縄である事から調査の重点は沖縄におき、全国的な終宿主・中間宿主調査が必要となる。本年度は、本症の監視体制を構築する上で検疫所が実施している港湾部ネズミ調査がどのような役割を果たしうるかという観点から調査を行った。

1. 中国南部における元住血吸虫症 流行地の寄生虫性疾患に関する疫学 調査

A. 研究目的

ヒトとモノの流通を通じて感染が広がる蠕虫症の疫学情報を整備する上で、日本との間で近年益々密接な国際関係を発展させている中国の実態を把握しておく事は極めて重要である。とりわけ中国での食品媒介の寄生蠕虫症の実情を調査する事は重要な課題となっている。そこで、中国南部の広西壮族自治区（省）において3ヵ所の調査区を設定しそれぞれ肝吸虫症と腸管寄生虫症、有鉤及び無鉤条虫症と有鉤囊虫症、肺吸虫症を重点として疫学調査を実施した。

B. 研究方法

1) 肝吸虫と腸管寄生線虫の侵淫状況に関する調査は Kato-Katz 厚層塗沫（1サンプル3枚）による糞便検査を実施し、肝吸虫寄生の程度を知るためにEPG（糞便 1g 中の虫卵数）を測定し、1,000 個以下を「軽度」、1,000 から 9,999 を「中程度」10,000 以上を「重度」とした。また、肝吸虫成虫抗原を用いた通常の酵素抗体法（ELISA）を虫卵陽性者あるいは陰性者の一部の血清について実施した。ELISA 抗体陽性で Kato-Katz 法虫卵陰性例については、ホルマリンエーテル集卵法で再度虫卵検査を行った。更に、検出された鉤虫卵についてはズビニ鉤虫かアメリカ鉤虫かを区別するためと糞線

虫の確認のためにフィルターペーパーを用いた糞便の培養を実施した。12才以下の被検者は、蟯虫の検査を目的としてセロテープによる肛囲検査を行った。2) 有鉤及び無鉤条虫と有鉤囊虫症の調査は、家庭へのアンケートにより条虫片節排出の有無と、排出ある場合は更に皮下腫瘍或いはてんかんの有無を聞いた。このようにして有鉤囊虫の感染の可能性があるものについては、有鉤囊虫に対する抗体を検出する為に ELISA を実施した。3) 肺吸虫症の調査はカニ生食の有無などの聞き取りに引き続いて、スクリーニングとして皮内反応を行いその陽性者に関しては血清の ELISA を行った。そして最終的には、喀痰又は糞便中の虫卵を検出する事とした。

C、研究結果

1) 肝吸虫と腸管寄生線虫の侵淫状況
横県地域から三地域を選び、ランダムに 1552 人について調査をした結果、肝吸虫と腸管寄生線虫を含む全体的な寄生率は 48.9% で 44.2% から 53.8% の範囲であった。回虫、鞭虫、鉤虫の平均寄生率は、それぞれ 15.9%, 12.8%, 7.5% であった。肝吸虫だけの寄生率は 3 ヲ所それぞれ 37.6%, 31.3%, 25.2% で平均は 31.5% であった。肝吸虫卵陽性者の平均 EPG は 5,159 を数えた。培養法による鉤虫の種別判定では、3.3% のズビニ鉤虫以外は全てアメリカ鉤虫という結果であった。12 才以下 272 名の蟯虫検査では 3 ヲ所の平均で 14.0% が陽性であった。更に、肝吸虫卵が陽性であった

205 人について ELISA を実施したところ 191 人(93.2%)が陽性であった。

2) 肺吸虫症の調査

龍勝地域の三地域からは 1500 人に実施した皮内反応で、陽性者は 58 人(4%) に過ぎなかった。この陽性者について ELISA を実施したところ 1 例のみ陽性を見出した。

2) 有鉤及び無鉤条虫と有鉤囊虫症の調査

融水地域の三地域では合せて 1512 人について調査をした。ELISA については条虫片節を排出した者について実施し 200 人のうち 17 人(8.5%)が抗体陽性を示した。この 200 人は苗族でその殆どが農民で文盲であった。

D、考察

今回の調査によって得られた結果は、中国南部における元住血吸虫症流行地における寄生虫性疾患の現況を明らかにする上で重要な知見であると思われる。特に、かつて日本住血吸虫症の有病地であった横県地域の腸管寄生虫と肝吸虫との侵淫状況の変化は興味深い。この地域は 1989 年に中国全土で行われた寄生虫全国調査のパイロットエリアとなった所で、当時は、肝吸虫症 18% に対して、回虫、鉤虫、鞭虫の寄生率はそれぞれ 71%, 34%, 55% という結果が得られていた。しかしながら今回の調査結果では、回虫、鉤虫、鞭虫の寄生率が顕著に低下している一方肝吸虫寄生の著しい増加という事実が浮かび上がってきた。回虫、鉤虫、鞭虫の寄生率低下は、90 年代に腸管寄生

線虫の駆虫薬投与事業を小、中学校生徒を中心に実施した事と、この時期を境に生活水準と環境衛生及び衛生知識の向上といった事の成果が現れてきた事によると思われる。このような状況の下で、肝吸虫の寄生率が18%から31.5%までに上昇している事は非常に重大な問題であるといえる。原因として考えられる事として人々の生活条件の向上に基く食習慣の変化（淡水魚生食の普及）があり、これこそ当地方における寄生虫症の疫学状況がまた新しい問題 - 食品由来寄生虫 - に直面しつつある事を示しているように思われる。

E、結論

物と人との交流が頻繁な中国とわが国との関係において、寄生蠕虫症の疫学的状況が変化しつつある中国の実態を把握することは、わが国の輸入寄生蠕虫症対策にとって重要である。

F、健康危険情報

なし

2、広東住血線虫症の疫学と予防に関する研究

2-A: 沖縄県での血清疫学的調査

A、研究目的

広東住血線虫症は1970年に沖縄で本邦初の感染事例が報告されて以来1996年までに全国10都道府県から37例が報告されているが、その多くは沖縄県での事例であった。沖縄県における患者発生は年間2~3名で何れも重

症例で感染源の多くは特定されてきた。ところが1999年12月~2000年6月までの4ヶ月の間に、症状は軽微ながら感染源が特定されない10例もの広東住血線虫感染事例が沖縄県で続発した。この事は沖縄県での広東住血線虫の感染様式に何らかの変化が現われてきた可能性があり調査が必要になった。本年度は血清疫学的調査を実施した。

B、研究方法

血清サンプルは、国頭村、東村、本部町、宜野座村、恩納村、玉城村、糸満市、久米島町、平良市、平良市西原、石垣市に11箇所であつて夫々100名程度の住民から保健所を通じてインフォームドコンセントの手続きを経た後に提供された1139本である。抗体の検出は次のELISA法によって実施した。

蛋白量が $2\mu\text{g/ml}$ になるように炭酸緩衝液(0.05M pH 9.6)で希釈した抗原(広東住血線虫雌成虫のPBS抽出液)を用いて、常法により98穴(ウェル)の平底マイクロプレートに抗原をコーティングをした。用時、1%牛血清アルブミン(BSA)添加・希釈洗浄液(0.05% Tween20 磷酸緩衝食塩液、0.15M、pH7.4)にて37°Cで45分間ブロッキングを行った。被験血清と陰性対照血清は希釈洗浄液で500倍、陽性対照血清は1000倍に各々希釈して各ウェルに $100\mu\text{l}$ ずつ分注し、37°Cで45分間1次反応を行った。反応はそれぞれの血清について3ウェルで同時に実施した。1次反応終了後希釈洗浄液で5回ウェルを洗い、更に2000

倍に希釈した酵素標識抗ヒト IgG 抗体液 100 μ l をすべてのウェルに入れて、37 $^{\circ}$ C、45 分間で 2 次反応を行い、その後再び 5 回ウェルを洗った。すべてのウェルに発色基質 (ABTS) 液 200 μ l を分注し 37 $^{\circ}$ C で 30 分間反応させた。反応終了後、直ちにマイクロプレート用吸光度計 (波長: 415nm) で吸光度を測定し、同一の被検血清について 3 つのウェルで得られた OD 値の平均値を算出しそれを ELISA 値とした。陽性者を推定する為のカット・オフ値算出のためには、陰性グループとして 1) 鹿児島県在住の健常人の血清 24 検体、及び 2) 寄生虫症以外の何らかの疾患を持つ人の血清 60 検体を、被験血清と同一条件で試験した。2 つのグループについて、個々の血清反応で得られた OD 値に関してその平均値と標準偏差を求めると、1) については平均値 0.1854 および標準偏差 0.095、2) については平均値 0.2991 および標準偏差 0.2380 という値を得た。これを “平均値 + 2 \times 標準偏差” として計算して得た数値をカット・オフ値とすると、1) は 0.33、2) は 0.77、となった。そこでここでは、OD 値 0.77 以上を抗体陽性者と判定した。

C、研究結果

抗体陽性者は本部町以外の 10 市町村で認められた。陽性率が最も低かったのは久米島町の 3.1%、最も高かったのは宮古島平良市西原集落の 20.0% で、平均陽性率は 7.7% であった。地域別に見てみると、本島北部地域が 0 ~ 9.2% (平均 6.6%)、南部では 3.7 ~

13.4% (平均 10.1%)、離島では 3.1 ~ 20.0% (平均 7.5%) となり、最も高い地域は沖縄本島南部地域、次に離島地域、北部地域の順となっている。

D、考察

沖縄における広東住血線虫に関する調査は 1980 年代に中間宿主、終宿主及び血清疫学と広範囲に実施されている。今回の調査は当時の調査結果と比較することで疫学状況の変化を把握しようとするものである。当時の Sato et al.(1981)による抗体調査 (間接血球凝集反応) では 21 市町村から約 3000 名の血清を検査し、陽性率は 9.3% から 63.2% という結果が報告されている。そして最も陽性率の高かった地域は今帰仁 63.2%、久志 53.1% で、北部農村部が高いとしている。今回の結果は、一般に陽性率が低下していること、陽性率の高い地域が移動していることなどが認められ興味深い。今後の中間宿主、終宿主などの調査を含めて、沖縄の広東住血線虫症発生の疫学要因について解析することが必要である。

E、結論

沖縄県地域住民の広東住血線虫に対する血清疫学調査を行ったところ、約 20 年前の同様な調査と比較して、陽性率の低下、高度侵淫地域の変化など、相当な変化が認められた。

F、健康危険情報

なし

2-B：横浜市港湾区域のドブネズミに寄生する広東住血線虫に関する調査

A、研究目的

本症の監視体制を構築する上で検疫所が実施している港湾部ネズミ調査がどのような役割を果たしうるかという観点から横浜検疫所の協力のもとに、横浜市港湾区域のドブネズミに寄生する広東住血線虫に関する調査を行った。

B、研究方法

2001年9月から2002年10月までに横浜検疫所の通常業務として9回のネズミ採集が行われた。採集したネズミは解剖され、ウイルス、細菌、内部寄生虫、外部寄生虫の検査に付される。このとき肺動脈に寄生する住血線虫の採取も合わせて行われている。

C、研究結果

2001年から2002年にかけて、横浜検疫所が横浜市の港湾地区で捕獲したドブネズミは5ヶ所から42頭であった。これらを検査したところ37頭(88%)から広東住血線虫が検出された。この事は、現在もこの港湾区域では本種線虫が定着していることが確認された。これに加えて1頭から近縁種であるマレー住血線虫 *A. malaysiensis* が検出された。

D、考察

マレー住血線虫は国内では北九州市内のドブネズミから寄生の報告があるが、九州以外では発見されてい

なかった。現在、横浜市への移入時期を推定するため、横浜検疫所輸入食品・検疫検査センターに保管されている過去(1991~2000年)の標本の再検討を進めている。

E、結論

全国の検疫所所在地においては、港湾区域内の衛生環境を良好な状態に維持し検疫感染症及びそれに準ずる感染症の国内への侵入と蔓延を防止するためにネズミ類の調査及び駆除が実施されている。この調査に広東住血線虫或はマレー住血線虫の日本国内での分布状況の調査、及び本種寄生虫を原因とする疾患発生の監視体制を結びつける可能性について今後の考究が必要と思われた。

F、健康危険情報

なし

G、研究発表

1、論文発表

1) Yu, S.H., Kawanaka, M., Li, X.M., Xu, L.Q., Lan C.G., Lin.R., Epidemiological investigation on *Clonorchis sinensis* in human population in an Area of South China. Jpn. J. Infect. Dis., 56, 168-171, 2003.

2、学会発表

1) 安里龍二、平良勝也、久高潤、中村正治、糸数清正、沖縄県における広東住血線虫症の発生とその病因学的背景、日本臨床寄生虫学会、2003

2) 森嶋康之、杉山広、川中正憲、今成敏夫、飯塚信二、青木英雄、横浜市港湾区域のドブネズミに寄生する広

東住血線虫に関する調査、日本寄生虫学会東日本大会、2003

ミニブタを用いた日本住血吸虫感染動物モデルの開発

分担研究者 平山謙二 長崎大学 熱帯医学研究所 疾病生態分野

日本住血吸虫症は中国の浸淫地においては水牛、牛、家豚などが重要な日本住血吸虫の保有宿主となっており、コントロールの面からも重要な対策である。その病態の解析のために取り扱いの容易なクラウン系ミニブタを用いて日本住血吸虫感染モデルの可能性について検討を続けている。平成14年度に行った結果からは、ミニブタが実験動物モデルとして、ワクチントライアル、あるいは住血吸虫感染後の肝線維症モデルの開発等に応用が可能であることが示唆されている。今年度はその結果をふまえて、 γ 線照射セルカリアによる、防御免疫について観察を行った。MHC クラス II 遺伝子型のほぼ同一な生後 5 週令の雄ミニブタ 6 頭（平均体重 2.4 kg）を用い、そのうちの 3 頭に γ 線（20Krad）照射セルカリアを 400 隻経皮感染させた。その 8 週後に全頭にセルカリアを 200 隻感染させ、コントロール群と免疫群での防御反応の観察を行った。

γ 線照射セルカリア免疫群では、コントロールと比べ、感染後 8 週目以後の虫卵数が半減した。この結果からは γ 線照射セルカリアによるワクチンがミニブタにおいても有効であることが示唆された。

A. 研究目的

ミニブタが日本住血吸虫の感染防止ワクチントライアルとしての実験動物モデルの可能性について検討することを本研究の目的とした。

B. 研究方法

MHC クラス II 遺伝子型（表 1）のほぼ同一な生後 5 週令の雄ミニブタ 6 頭（平均体重 2.4 kg）を用いて、そのうちの 3 頭に γ 線（20Krad）照射セルカリアを 400 隻経皮

感染させた。その 8 週後に全頭にセルカリアを 200 隻感染させ、コントロール群と免疫群での防御反応の観察を行った。感染後直後から毎週採血を行い、血清中の特異的抗虫体及び虫卵抗体検出用の試料とすると共に、CD4、CD8T 細胞及び、好酸球数の変動を確認した。超音波診断装置を用いて肝病変についてのモニターを行なった。また、感染 4 週間からは便中の虫卵数（EPG）により、防御免疫の効果を判定した。

表 1. 用いたミニブタの SLA(MHC) class 1, class II アレル

		Class I			Class II	
		SLA-1	SLA-2	SLA-3	DRB1	DQB
control	P-05	PD-1	02/03	02/03	7/21	S08/G11
	P-075	PD-1	02/03	02/03	7/21	S08/G11
	P-12	PD-1	02	03	7/21	S08/G11
immunized	P-09	PD-1	02/03	02/03	7/21	S08/G11
	P-10	PD-1	02/03	02/03	7/21	S08/G11
	P-14	PD-1	02/04	03	7/21	S08/G11

C. 研究結果

γ線照射セルカリアを 400 隻経皮感染させ免疫した群と対象群に 200 隻のセルカリアを感染させたところ、免疫群では感染部位に明らかな発赤が認められた。感染後 5 週目からの便中には虫卵が免疫群、対照群で認められ、その後 9 週目まで虫卵の排出を認めている。感染後 6 週目に免疫群では便中虫卵数がピークを示し (280 eggs/g) その後は 200 eggs/g 前後していた。対照群では、感染後 8 週目にピークを示し (700 eggs/g) その後は 500eggs/g 前後であった

(図 1)。γ線照射セルカリア免疫群では、コントロールと比べ、感染後 8 週目以後の虫卵数が半減した。CD4,CD8T 細胞の変動は、対照群と免疫群で大きな違いを示さなかった。血中好酸球数は、免疫群、対照群で感染後 2 週目から上がり始め、6 週後には急増した。免疫群でやや高くなる傾向を示したが、有意差は認められなかった (図 2)。超音波検査像による肝病変は認められていない。

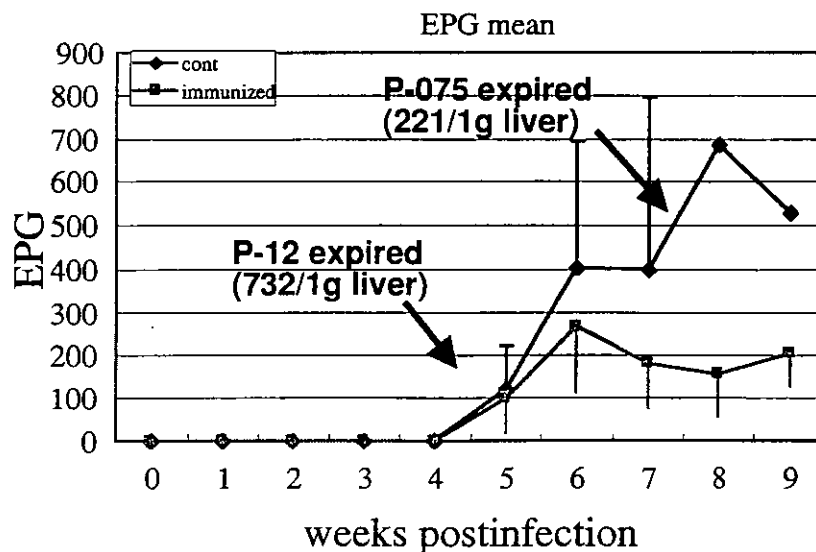


図 1 感染後の便中虫卵数

注：対照群のうち 2 頭が事故死した。一頭は肝生検によるショック死であるが、もう一頭は先天性奇形による横隔膜孔への腸閉塞と思われる。この 2 頭については、死後解剖し肝臓消化法を行った。図中の 2 点は肝臓中虫卵数を示す。

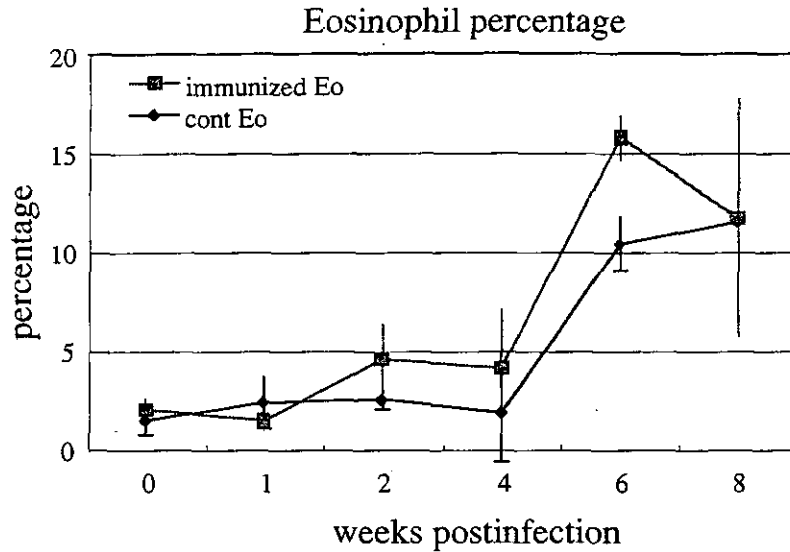


図2 末梢血中好酸球数 (%)

D. 考察

昨年度に行った2頭のミニブタについて感染経過を追った実験結果と今回の感染実験結果を対照群と比較したところ、感染後5週目から便中に虫卵が認められ、約8週後にピークを示すことや、200隻セルカリア感染による便中虫卵数についてもほぼ、前回と同様の結果が得られた。このことは、ミニブタが日本住血吸虫の感染に対して安定した結果を示す事が示唆されており、実験動物モデルとしてすぐれたものであることが明らかとなった。感染防御機能についても、以前に報告されている家豚でのγ照

射セルカリアでの免疫実験結果と比較すると、やや低い結果ではあるものの防御免疫応答が起こっていることが確認された(表2)。免疫方法が異なるため、結果をそのまま比較することは難しい。今回の免疫方法は繰り返しなしの1回のみであったので、追加免疫するなどの方法をとればより強い免疫効果が得られるかもしれない。より効果的な免疫方法を検討する必要があると考えられた。今後は成虫数、組織像、リンパ球等の反応等の比較検討を行い、より詳細な検討を行う予定である。

表2 EPG at 7 weeks p.i. Protection

Domestig pig*	Non-immunized	36.0	
	Immunized	1.6	96.0%
CLAWN miniature pig	Non-immunized	401.0	
	Immunized	108.0	56.0%

*Vet. Parasitol. (2001) 100 51-62; Immunized with 2000 att. Cercariae 3 times at 2 weeks interval

E. 結論

本研究によりγ線照射セルカリアによるワクチンがミニブタにおいても有効であることが示唆され、ワクチントライアルの実験動物としての可能性が確認された。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 平山謙二 住血吸虫を悪化させる宿主側の遺伝要因. 医学のあゆみ 208 巻 2 号 95-98, 2004
2. Kanji Watanabe, Mihoko Kikuchi, Akio Ohno, Raafat Taha Mohamed, Takeshi Nara, Ratawan Ubalee, Masachika Senba, Takuya Iwasaki, Honggen Chen, Yoshiki Aoki, Kenji Hirayama. The miniature pig: A unique experimental model for *Schistosoma japonicum* infection. *Parasitology International*, in press 2004

2. 学会発表

1. 渡部幹次、菊池三穂子、M. Raafat Taha、平山謙二、青木克己日本住血吸虫感染モデルとしてのミニブタ 日米寄生虫研究部会 2003年1月24-25日 名古屋
2. 日本住血吸虫感染後の肝線維化の重症度を規定する IL-13 プロモーター遺伝子の機能解析 菊池三穂子, Honggen Chen, 久保達也, Ratawan Ubalee, Xiaojun Zeng, 平山謙二 第72回日本寄生虫学会 久留米 3月26-29日
3. 日本住血吸虫感染モデルとしてのミニブタ 渡部幹次、菊池三穂子、M. Raafat Taha、大野晃生、岩崎琢也、青木克己、平山謙二 第

72回日本寄生虫学会 久留米 3月26-29日

4. K. Hirayama. Genetic susceptibility to post-Schistosomal liver fibrosis in humans. Centenary Symposium to Celebrate of the Discovery of *Schistosomiasis japonicum*. Kurume, Japan, March 30, 2003.
5. Kanji Watanabe, Mihoko Kikuchi, Akio Ohno, Raafat Taha Mohamed, Takeshi Nara, Ratawan Ubalee, Masachika Senba, Takuya Iwasaki, Honggen Chen, Yoshiki Aoki, Kenji Hirayama. The miniature pig: As Highly susceptible experimental model for *Schistosoma japonicum* infection. The 52nd Annual Meeting of the American society of Tropical Medicine and Hygiene, Philadelphia, Pennsylvania, USA, December 3-7, 2003
6. Kanji Watanabe, Mihoko Kikuchi, Akio Ohno, Raafat Taha Mohamed, Takeshi Nara, Ratawan Ubalee, Masachika Senba, Takuya Iwasaki, Honggen Chen, Yoshiki Aoki, Kenji Hirayama. The miniature pig: As Highly susceptible experimental model for *Schistosoma japonicum* infection. U.S.-JAPAN Cooperative Medical Science Program Parasitic Diseases Panel Annual Meeting. Charlottesville, Virginia, USA, September 7-9, 2003

厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）

分担研究報告書

動物由来回虫症の発症病理に関する研究

分担研究者 赤尾信明

東京医科歯科大学大学院国際環境寄生虫病学分野

共同研究者

林 栄治（東京医科歯科大学大学院国際環境寄生虫病学分野）

友田弥里（東京医科歯科大学大学院国際環境寄生虫病学分野）

研究要旨： 動物由来感染症の病原体として重要なイヌ回虫幼虫は、ヒトの網膜に移行してぶどう膜炎（眼トキソカラ症）の原因となる。しかし、幼虫の眼内への移行経路についての研究はほとんど行われていなかった。そこで眼トキソカラ症の有用な動物モデルであるスナネズミを用いて、眼内移行経路について検討したところ、頭蓋腔内に直接注入されたイヌ回虫感染幼虫は9日以内に視交叉、視神経を通過して網膜下に出現し、網膜深層出血を引き起こした。このような出血病変は幼虫を接種されたスナネズミの56.3%に出現した。経口感染スナネズミでは幼虫包蔵卵投与後4日目ですでに出血性病変が出現することから、スナネズミにおける眼病変出現には、血行性による網膜への移行と脳内に移行した幼虫が視神経を介して眼内に移行する2通りの移行経路があることが証明された。また、イヌ回虫あるいはネコ回虫幼虫包蔵卵をスナネズミに経口感染させると、イヌ回虫では感染後50日目頃から、ネコ回虫では120日目頃から不可逆性の神経症状を発症する。その発症率は49%（イヌ回虫感染スナネズミ）あるいは71%（ネコ回虫感染スナネズミ）と高率であった。病理組織学的検査で、発症スナネズミではすべての個体で小脳プルキンエ細胞や神経線維あるいは髄鞘の消失が認められた。また、幼虫の断端が見られる箇所とは無関係な部位の小脳白質層におけるマクロファージ細胞の集簇巣が散見された。以上のことから、スナネズミはヒトの神経型トキソカラ症の有用な動物モデルとなる可能性を示唆していた。

A. 研究目的

動物由来感染症の病原体として重要なイヌ回虫幼虫は、ヒトに感染すると内臓諸臓器に移行して、発熱、全身倦怠、好酸球増多などを伴った内臓幼虫移行症を起こす（内臓型）。

また、眼網膜に移行して眼イヌ回虫幼虫移行症の原因となることがある（眼型）。さらに、中枢神経系に移行するとてんかん様発作や痙攣などの神経症状が出現する（中枢神経型）。また、これらの病態を惹起するのは

イヌ回虫幼虫だけではなくネコ回虫やタヌキ回虫，さらにはアライグマ回虫やクマ回虫など，多くの種類の動物由来回虫によっても引き起こされることが明らかになってきた。

これまで，イヌ回虫幼虫による内臓型幼虫移行症については，マウスやウサギ，サルなど多くの動物種について数多くの実験成績が報告され，ヒトの病態を理解する上で貴重な動物モデルとなってきた。しかし，眼型や中枢神経型の動物由来回虫症の動物モデルがなかったため，これら2型の病態についての研究の進展はまったくみられなかった。

われわれは，スナネズミにイヌ回虫やネコ回虫幼虫包蔵卵を経口投与すると，極めて高率に網膜出血や血管周囲炎，網膜の変性が起き，感染スナネズミの80%で網膜内や硝子体腔内に幼虫が確認できることを明らかにし，スナネズミが眼型イヌ・ネコ回虫症（トキシカラ症）の新しい動物モデルとして極めて有用であることを明らかにしてきた。

ヒトの眼トキシカラ症では，幼虫が網膜内に侵入する経路に関しては血行性と神経行性が実験的な裏付けのないまま推測されてきた。そこで，われわれはスナネズミを用いた系によるイヌ回虫感染幼虫の眼内移行経路について検討した。

また，スナネズミにイヌ回虫やネコ回虫を経口投与すると感染後50日を経過した頃より，後躯痲痺や旋回運動などの神経症状を現す個体が出現することから，スナネズミが眼型トキシカラ症だけでなく，ヒトの中枢神経型トキシカラ症のモデル動物としても有用ではないかとの推測のもと，神経症状の出現した個体の神経病理組織学的検討を行った。

B. 研究方法

1. 動物

実験には50-60gのスナネズミ(Mongolian gerbils)を用いた。これらのスナネズミは日本医科大学動物実験室で繁殖・維持されているものを東京医科歯科大学国際環境寄生虫病学教室の動物実験室に搬入し，実験に供した。

2. 寄生虫

実験に用いたイヌ回虫幼虫包蔵卵は，イヌ回虫に感染していた仔犬に駆虫薬（パーベンダゾール，三共純薬）を投与して，糞便内に排出された成虫から虫卵を採取し，0.5%ホルマリン水中で1ヶ月以上培養して幼虫包蔵卵にまで発育したのから，感染幼虫を無菌的に集め，Dulbeco-MEM (Sigma)で飼育したのを用いた。ネコ回虫も同様にして幼虫包蔵

卵にまで発育させてから実験に用いた。

3. 感染幼虫の頭蓋内接種と経口感染

スナネズミをペントバルビタールナトリウム 30mg/Kg (ピットマン・ムーア) で麻酔後、頭頂部の皮膚を切開し、300隻の感染幼虫を23ゲージの注射針を用いて直接脳内に接種した。接種前に幼虫は生理食塩水で数回洗浄した。切開部を縫合ののち経過を観察した。合計17匹のスナネズミに接種を行った。

幼虫接種後、1匹のスナネズミが24時間以内に死亡した。また、6匹のスナネズミは接種後進行性の痙攣や運動麻痺が出現し、2週間目に死亡した。残りの10匹は実験終了まで目立った神経症状をみられなかった。

感染にはあらかじめ虫卵の蛋白膜を除去した幼虫包蔵卵1000個を胃カテーテルで直接投与した。感染実験には、57匹のスナネズミにイヌ回虫を、8匹のスナネズミにはネコ回虫卵を経口投与した。これらのスナネズミは、その多くは眼底観察のための実験に供され、1ヶ月以内に殺処分されたが、この時期を越えた個体に運動失調がみられた。今回の検討では、これら65匹のスナネ

ズミのうち20匹 (イヌ回虫感染スナネズミ13匹、ネコ回虫感染スナネズミ7匹) の神経学的変化を観察した結果についてまとめた。

4. 眼底観察と病理組織学的検討

接種スナネズミは眼底カメラ (VMS-170M, Scalar) を用いて網膜を3日毎に接種後60日目まで経時的に観察した。一部のスナネズミについては病理組織学的検討のために殺処分後ただちに脳を摘出した。2.5%グルタルアルデヒドと4%ホルムアルデヒドで固定後、JB-4樹脂包埋し、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色を施した。また、1匹の脳を細切して2枚のスライドガラスに圧平して顕微鏡下に脳内の幼虫数を計測した。

重篤な神経症状を呈した2匹のイヌ回虫感染スナネズミと1匹のネコ回虫感染スナネズミを病理組織学的検討に用いた。イヌ回虫感染スナネズミは感染後100日目と144日目、ネコ回虫感染スナネズミは感染後182日目であった。2.5%グルタルアルデヒドと4%ホルムアルデヒドで固定後、頭蓋内から脳を摘出し、さらに3日間後固定した。パラフィン包埋薄切後、HE染色、Kluver-Barrera染色、Bodian染色を施した。さらに、抗グリア神経線維産生蛋白 (GFAP) 抗

体 (code 422491, ニチレイ) と抗ライソゾーム/ムラミダーゼ抗体, イヌ回虫 LES 抗原に対するモノクローナル抗体 (東京医科大眼科横井先生から供与) を用いた。

5. 倫理面への配慮

東京医科歯科大学動物実験委員会の定める倫理規定に基づき実験計画書を作成し, 同委員会の書面による承認のもとにすべての実験を行った。

C. 研究結果

1. 中枢神経系に寄生したイヌ回虫幼虫の網膜内移行経路に関する実験的証明

(1) 網膜出血性病変と幼虫の出現

イヌ回虫感染幼虫を脳内に直接接種されたスナネズミは, 接種後6日目から硝子体出血や網脈絡膜出血が網膜周辺部や視神経乳頭部に出現した。幼虫も同時に出現し, 活発に運動していた。合計32眼中12眼で出血病巣が確認された。左右同時に出血病変が存在した個体もあった。また, 接種後12日目には8匹のスナネズミの15眼で出血病変が認められた。これらの出血病変はおおよそ1ヶ月をかけて吸収され消失していった。ヒトでみられるような肉芽腫病変はみられなかった。

(2) 病理組織学的変化

感染幼虫を脳内接種して経過を観察できた16匹のスナネズミのうち, 接種後6日目に1匹の脳をスライドガラス圧平法で脳内幼虫数を調べたところ, 329隻の幼虫が確認され, 脳内に接種された幼虫は他の場所に移行し難いことが推測された。

接種後6日目で, 視神経内に幼虫が組織学的に確認でき, さらに, 9日目のスナネズミでは2隻の幼虫が視交叉にみられ, さらに出血病変のある網膜内にも幼虫がみられた。しかし, 幼虫周囲には炎症性の反応は認められなかったが, 視神経皮膜下には好酸球の浸潤がみられた。

2. イヌ回虫やネコ回虫慢性感染スナネズミに見られる不可逆性神経症状の発現とその神経病理組織学的研究

(1) 神経症状発現の頻度と臨床経過

イヌ回虫感染後50日を経過して経過を観察し得た13匹のスナネズミのうち6匹(46%)と7匹のネコ回虫感染スナネズミのうち5匹(71%)で神経学的異常を認めた。初期には, 後肢で立ち上がったときのふらつきとして気づかれ, 歩行障害は徐々に顕著になり, しばしば歩行不能となった。また, 旋回運動や頭部を正常位置に保てなくなるなど